

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-217794

(43) 公開日 平成8年(1996)8月27日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 K 7/64	Z N A	8517-4H	C 0 7 K 7/64	Z N A
A 6 1 K 38/00	A B X		A 6 1 K 37/02	A B X
	A C B			A C B

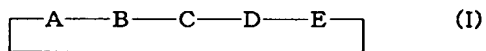
審査請求 未請求 請求項の数7 O L (全 9 頁)

(21) 出願番号	特願平7-26674	(71) 出願人	593226869 有限会社バイオコスモス 東京都世田谷区松原3-23-27-203
(22) 出願日	平成7年(1995)2月15日	(72) 発明者	遠藤 章 東京都杉並区宮前3-2-19
		(72) 発明者	蓮見 恵司 神奈川県川崎市高津区溝口541-10 セザール溝口 102
		(72) 発明者	井上 利樹 東京都国分寺市南町1-3-2 山里荘 206
		(72) 発明者	国安 徹 千葉県市川市関ヶ島12-12-310
		(74) 代理人	弁理士 塩澤 寿夫 (外1名)

(54) 【発明の名称】 環状ペントペプチド

(57) 【要約】

【構成】 下記の式(I) :

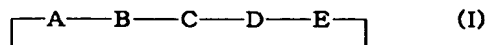


(式中、Aは、例えば D-Val等のアミノ酸を示し、Bは、例えば L-Leu等のアミノ酸を示し、Cは、例えば D-Leu等のアミノ酸を示し、Dは、例えば L-Phe等のアミノ酸を示し、Eは、例えば D-Arg等のアミノ酸を示す)で示される環状ペントペプチド。

【効果】 本発明の環状ペントペプチドは、プラスミノーゲンの活性化促進作用を有しており、例えば血栓溶解剤または抗動脈硬化剤等として有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記の式(I)：



(式中、Aは Val、Leu、Phe、Lys、Arg、Glu、Gln、及び Ser からなる群から選ばれたアミノ酸を示し、Bは Leu、Val、Phe、Lys、Arg、His、Glu、Gln、Ala、及び Ser からなる群から選ばれたアミノ酸を示し、Cは Leu、Val、Phe、Lys、Arg、Glu、Gln、Ala、及び Ser からなる群から選ばれたアミノ酸を示し、Dは Phe、Val、Leu、Tyr、Lys、Arg、His、Glu、Gln、Ala、及び Ser からなる群から選ばれたアミノ酸を示し、Eは Arg、Val、Leu、Phe、Lys、His、Glu、Asn、Ala、及び Ser からなる群から選ばれたアミノ酸を示す)で示される環状ペプチド。

【請求項2】 Aが D-Val、L-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala 及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Bが L-Leu、L-Val、D-Leu、L-Phe、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Cが D-Leu、D-Val、L-Leu、D-Ala、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala、及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Dが L-Phe、D-Phe、L-Val、L-Leu、L-Tyr、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Eが D-Arg、D-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、L-Lys、L-Arg、D-His、L-His、D-Glu、D-Gln、D-Asn、D-Ala、及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸である請求項1記載の環状ペプチド。

【請求項3】 Aが D-Valであり、Bが L-Leu、L-Val、D-Leu、L-Phe、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Cが D-Leu、D-Val、L-Leu、D-Ala、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala、及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Dが L-Phe、D-Phe、L-Val、L-Leu、L-Tyr、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Eが D-Arg、D-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、L-Lys、L-Arg、D-His、L-His、D-Glu、D-Gln、D-Asn、D-Ala、及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸である請求項1記載の環状ペプチド。

【請求項4】 Aが D-Val、L-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala 及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Bが L-Leuであり、Cが D-Leu、D-Val、L-Leu、D-Ala、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala、及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Dが L-Phe、D-

-Phe、L-Val、L-Leu、L-Tyr、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Eが D-Arg、D-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、L-Lys、L-Arg、D-His、L-His、D-Glu、D-Gln、D-Asn、D-Ala、及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸である請求項1記載の環状ペプチド。

【請求項5】 Aが D-Val、L-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala 及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Bが L-Leu、L-Val、D-Leu、L-Phe、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Cが D-Leuであり、Dが L-Phe、D-Phe、L-Val、L-Leu、L-Tyr、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Eが D-Arg、D-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、L-Lys、L-Arg、D-His、L-His、D-Glu、D-Gln、D-Asn、D-Ala、及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸である請求項1記載の環状ペプチド。

【請求項6】 Aが D-Val、L-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala 及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Bが L-Leu、L-Val、D-Leu、L-Phe、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Cが D-Leu、D-Val、L-Leu、D-Ala、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala、及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Dが L-Pheであり、Eが D-Arg、D-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、L-Lys、L-Arg、D-His、L-His、D-Glu、D-Gln、D-Asn、D-Ala、及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸である請求項1記載の環状ペプチド。

【請求項7】 Aが D-Val、L-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala 及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Bが L-Leu、L-Val、D-Leu、L-Phe、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Cが D-Leu、D-Val、L-Leu、D-Ala、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala、及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Dが L-Phe、D-Phe、L-Val、L-Leu、L-Tyr、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Eが D-Argである請求項1記載の環状ペプチド。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は環状ペプチドに関するものである。さらに詳しくは、本発明は5個のアミノ酸からなる環状のオリゴペプチドに関するものである。

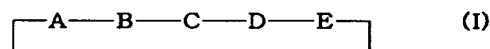
る。

【従来の技術】少数のアミノ酸からなるオリゴペプチドは数多く知られており、それらの中には、重要な生理作用を有するものが知られている。例えば、9個のアミノ酸からなるオキシトシンとバソプレッシンは重要なホルモンとして知られており、また、8個のアミノ酸からなるアンジオテンシン II は血圧上昇等の生理作用を有している。しかしながら、従来、環状のオリゴペプチドに関する知見は少なく、特に、5個のアミノ酸からなる環状ペプタペプチドについてはその存在がほとんど知られていなかった。

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、5個のアミノ酸からなる環状ペプタペプチドを提供することを目的としている。また、本発明の別の目的は、有用な生理作用、例えば血栓溶解または抗動脈硬化作用を有する環状ペプタペプチドを提供することにある。

【課題を解決するための手段】本発明者は、上記の目的を達成するために鋭意努力し、5個のアミノ酸からなる新規な環状ペプタペプチドを種々合成し、本発明を完成するに至った。また、本発明者は、上記の環状ペプタペプチドがプラスミノゲンの活性化促進作用を有しており、血栓溶解剤または抗動脈硬化剤として有用であることを見だし、本発明を完成するに至った。

すなわち本発明は、下記の式 (I) :



(式中、Aはバリン (Val)、ロイシン (Leu)、フェニルアラニン (Phe)、リジン (Lys)、アルギニン (Arg)、グルタミン酸 (Glu)、グルタミン (Gln)、及びセリン (Ser) からなる群から選ばれた D- アミノ酸を示し、Bはロイシン、バリン、フェニルアラニン、リジン、アルギニン、ヒスチジン (His)、グルタミン酸、グルタミン、アラニン (Ala)、及びセリンからなる群から選ばれたアミノ酸を示し、Cはロイシン、バリン、アロイソロイシン (AlIe)、フェニルアラニン、リジン、アルギニン、グルタミン酸、グルタミン、アラニン、及びセリンからなる群から選ばれたアミノ酸を示し、Dはフェニルアラニン、バリン、ロイシン、チロシン (Tyr)、リジン、アルギニン、ヒスチジン、グルタミン酸、グルタミン、アラニン、及びセリンからなる群から選ばれたアミノ酸を示し、Eはアルギニン、バリン、ロイシン、フェニルアラニン、リジン、ヒスチジン、グルタミン酸、アスパラギン (Asn)、アラニン、及びセリンからなる群から選ばれるアミノ酸を示す) で示される環状ペプタペプチドを提供するものである。本発明の一態様によれば、上記一般式 (I) において、Aが D-Val、L-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、及び D-Gln からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Bが L-Leu、L-Val、L-Phe、L-Lys、L-Arg、L-His、及び L-Gln からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Cが D-Leu、D-Val、L-Leu、D-Alle、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala、及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Dが L-Phe、D-Phe、L-Val、L-Leu、L-Tyr、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Eが D-Arg、D-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、L-Lys、L-Arg、D-His、L-His、D-Glu、D-Gln、D-Asn、D-Ala、及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸である環状ペプタペプチド ;

eu、D-Alle、D-Phe からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Dが L-Phe、L-Val、L-Leu、L-Tyr、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Eが D-Arg、D-Lys、L-Arg、及び L-Lys からなる群から選ばれる塩基性アミノ酸である環状ペプタペプチドが提供される。本発明の好ましい態様としては、上記一般式 (I) において、

(A) Aが D-Valであり、Bが L-Leu、L-Val、D-Leu、L-Phe、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Cが D-Leu、D-Val、L-Leu、D-Alle、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala、及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Dが L-Phe、D-Phe、L-Val、L-Leu、L-Tyr、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Eが D-Arg、D-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、L-Lys、L-Arg、D-His、L-His、D-Glu、D-Gln、D-Asn、D-Ala、及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸である環状ペプタペプチド ;

(B) Aが D-Val、L-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala 及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Bが L-Leuであり、Cが D-Leu、D-Val、L-Leu、D-Alle、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala、及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Dが L-Phe、D-Phe、L-Val、L-Leu、L-Tyr、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Eが D-Arg、D-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、L-Lys、L-Arg、D-His、L-His、D-Glu、D-Gln、D-Asn、D-Ala、及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸である環状ペプタペプチド ;

(C) Aが D-Val、L-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala 及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Bが L-Leu、L-Val、D-Leu、L-Phe、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Cが D-Leuであり、Dが L-Phe、D-Phe、L-Val、L-Leu、L-Tyr、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Eが D-Arg、D-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、L-Lys、L-Arg、D-His、L-His、D-Glu、D-Gln、D-Asn、D-Ala、及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸である環状ペプタペプチド ;

(D) Aが D-Val、L-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala 及び D-Ser からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Bが L-Leu、L-Val、D-Leu、L-Phe、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Ser からなる群から選ばれたアミノ

酸であり、Cが D-Leu、D-Val、L-Leu、D-Ile、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala、及び D-Serからなる群から選ばれたアミノ酸であり、Dが L-Pheであり、Eが D-Arg、D-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、L-Lys、L-Arg、D-His、L-His、D-Glu、D-Gln、D-Asn、D-Ala、及び D-Serからなる群から選ばれたアミノ酸である環状ペプチド；及び

(E) Aが D-Val、L-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala 及び D-Serからなる群から選ばれたアミノ酸であり、Bが L-Leu、L-Val、D-Leu、L-Phe、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Serからなる群から選ばれたアミノ酸であり、Cが D-Leu、D-Val、L-Leu、D-Ile、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala、及び D-Serからなる群から選ばれたアミノ酸であり、Dが L-Phe、D-Phe、L-Val、L-Leu、L-Tyr、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Serからなる群から選ばれたアミノ酸であり、Eが D-Argである環状ペプチドを挙げることができる。本発明のさらに好ましい態様としては、上記一般式(I) で示される化合物において、

(F) Aが D-Valであり、Bが L-Leuであり、Cが D-Leuであり、Dが L-Pheであり、Eが D-Arg、D-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、L-Lys、L-Arg、D-His、L-His、D-Glu、D-Gln、D-Asn、D-Ala、及び D-Serからなる群から選ばれたアミノ酸である環状ペプチド；

(G) Aが D-Valであり、Bが L-Leuであり、Cが D-Leuであり、Dが L-Phe、D-Phe、L-Val、L-Leu、L-Tyr、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Serからなる群から選ばれたアミノ酸であり、Eが D-Argである環状ペプチド；

(H) Aが D-Valであり、Bが L-Leuであり、Cが D-Leu、D-Val、L-Leu、D-Ile、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala、及び D-Serからなる群から選ばれたアミノ酸であり、Dが L-Pheであり、Eが D-Argである環状ペプチド；

(I) Aが D-Valであり、Bが L-Leu、L-Val、D-Leu、L-Phe、L-Lys、L-Arg、L-His、L-Glu、L-Gln、L-Ala、及び L-Serからなる群から選ばれたアミノ酸であり、Cが D-Leuであり、Dが L-Pheであり、Eが D-Argである環状ペプチド；及び

(J) Aが D-Val、L-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、D-Gln、D-Ala 及び D-Serからなる群から選ばれたアミノ酸であり、Bが L-Leuであり、Cが D-Leuであり、Dが L-Pheであり、Eが D-Argである環状ペプチドを挙げることができる。本発明の特に好ましい態様としては、上記一般式(I) で示される化合物において、

(K) Aが D-Valであり、Bが L-Leuであり、Cが D-Leu

であり、Dが L-Pheであり、Eが L-Arg、D-Arg、L-Lys、及び D-Lysからなる群から選ばれたアミノ酸である環状ペプチド；

(L) Aが D-Valであり、Bが L-Leuであり、Cが L-Leu、D-Leu、D-Val、D-Ile、及び D-Pheからなる群から選ばれたアミノ酸であり、Dが L-Pheであり、Eが D-Argである環状ペプチド；

(N) Aが D-Valであり、Bが L-Leu、D-Leu、L-Val、L-Phe、L-Lys、L-Arg、L-His、及び L-Gln からなる群から選ばれたアミノ酸であり、Cが D-Leuであり、Dが L-Pheであり、Eが D-Argである環状ペプチド；及び

(O) Aが D-Val、L-Val、D-Leu、D-Phe、D-Lys、D-Arg、D-Glu、及び D-Glnからなる群から選ばれたアミノ酸であり、Bが L-Leuであり、Cが D-Leuであり、Dが L-Pheであり、Eが D-Argである環状ペプチドを挙げることができる。本発明の最も好ましい態様としては、上記一般式(I) で示される化合物において、

(P) Aが D-Valであり、Bが L-Leuであり、Cが D-Leuであり、Dが L-Pheであり、Eが L-Argである環状ペプチド；

(Q) Aが D-Valであり、Bが L-Leuであり、Cが D-Leuであり、Dが L-Valであり、Eが D-Argである環状ペプチド；

(R) Aが D-Valであり、Bが L-Leuであり、Cが D-Leuであり、Dが L-Leuであり、Eが D-Argである環状ペプチド；

(S) Aが D-Valであり、Bが L-Leuであり、Cが D-Leuであり、Dが L-Tyrであり、Eが D-Argである環状ペプチド；および

(T) Aが D-Valであり、Bが L-Leuであり、Cが D-Leuであり、Dが L-Pheであり、Eが D-Lysである環状ペプチドを挙げることができる。

上記の式(I) で示される環状ペプチドのうち、A、B、C、及びDが疎水性アミノ酸であり、Eが塩基性アミノ酸であることが好ましい。また、Aが上記の疎水性 D-アミノ酸であり、Eが D-ArgまたはD-Lys である環状ペプチドも好ましい。もっとも、本発明は上記に例示した(A)～(T)の各態様に限定されることはない。上記式(I) で示される本発明の環状ペプチドは、本明細書の実施例を参照することにより、容易に入手可能なL-またはD-アミノ酸、またはそれらの誘導体を原料として当業者に容易に製造できる。本発明の環状ペプチドはプラスミノーゲンの活性化促進作用を有しており、血栓溶解剤または抗動脈硬化剤等として有用である。本発明の環状ペプチドを血栓溶解剤または抗動脈硬化剤等として用いる場合には、本発明の環状ペプチドを有効成分として含む医薬組成物を患者に投与することが好適である。有効成分としては、遊離形態の化合物の他、酸付加塩や塩基付加塩等の塩や、

それらの任意の水和物を用いることができる。また、本発明の環状ペプタペプチドを血栓溶解剤または抗動脈硬化剤等として用いる場合の投与形態は特に制限されず、経口的あるいは非経口的に投与することができる。上記の医薬組成物の製造に用いる薬理学的、製剤学的に許容しうる添加物としては、例えば、賦形剤、崩壊剤ないし崩壊補助剤、結合剤、滑沢剤、コーティング剤、色素、希釈剤、基剤、溶解剤ないし溶解補助剤、等張化剤、pH調節剤、安定化剤、噴射剤、及び粘着剤等を挙げることができる。経口投与に適する製剤の例としては、例えば、錠剤、カプセル剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、液剤、又はシロップ剤等を挙げることができる。また、非経口投与に適する製剤としては、例えば、注射剤、点滴剤、坐剤、吸入剤、又は貼付剤等を挙げることができる。経口投与、あるいは経皮又は経粘膜投与に適する製剤には、薬理学的、製剤学的に許容しうる添加物として、例えば、ブドウ糖、乳糖、D-マンニトール、デンプン、又は結晶セルロース等の賦形剤；カルボキシメチルセルロース、デンプン、又はカルボキシメチルセルロースカルシウム等の崩壊剤又は崩壊補助剤；ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、又はゼラチン等の結合剤；ステアリン酸マグネシウム又はタルク等の滑沢剤；ヒドロキシプロピルメチルセルロース、白糖、ポリエチレングリコール又は酸化チタン等のコーティング剤；ワセリン、流動パラフィン、ポリエチレングリコール、ゼラチン、カオリン、グリセリン、精製水、又はハードファット等の基剤を用いることができる。また、フロン、ジエチルエーテル、又は圧縮ガス等の噴射剤；ポリアクリル酸ナトリウム、ポリビニルアルコール、メチルセルロース、ポリイソブチレン、ポリブテン等の粘着剤；木綿布又はプラスチックシート等の基布等の製剤用添加物を用いて製剤を製造してもよい。注射あるいは点滴用に適する製剤には、注射用蒸留水、生理食塩水、プロピレングリコール等の水性あるいは用時溶解型注射剤を構成しうる溶解剤又は溶解補助剤；ブドウ糖、塩化ナトリウム、D-マンニトール、グリセリン等の等張化剤；無機酸、有機酸、無機塩基又は有機塩基等のpH調節剤等の製剤用添加物を添加してもよい。本発明の環状ペプタペプチドは、例えば、血栓症、動脈硬化、狭心症、心筋梗塞等の疾患に適用することができる。その際、上記の疾患の治療、あるいは上記の疾患以外の治療のために用いられる他の薬剤と併用してもさしつかえない。本発明の環状ペプタペプチドの投与量は特に制限されないが、投与形態、年齢、体重、症状等に応じて適宜選択すればよい。例えば、静脈内投与の場合には、成人1日あたり、有効成分量として0.1~10 mg/Kg、好ましくは0.2~5 mg/Kgを投与すればよい。投与は1日あたり1回もしくは数回に分けてもよく、投与期間も、年齢、症状等に応じて任意に定めることができる。なお、本発明の環状ペプタペプチドの

1化合物(A=D-Val; B=L-Leu; C=D-Leu; D=L-Phe; E=D-Arg)の急性毒性は、2 g/Kg (P.O.)であり、極めて毒性の低い化合物である。

【実施例】以下に本発明を実施例によりさらに具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されることはない。なお、実施例において以下の略号を用いる。

PyBOP: ベンゾトリアゾール-1-イル オキシ トリス (ピロリジノ)-ホスホニウムヘキサフルオロフォスフェート

HOBt: 1-ヒドロキシベンゾトリアゾール

NMM: N-メチルモルホリン

Fmoc: 9-フルオレニルメトキシカルボニル

環状ペプタペプチドの合成は、PyBOP-HOBt-NMMを用いたFmocケミストリーによって、2-クロロトリチルクロライド-レジンを用いた固定法により合成した。ArgやTyrなど反応性の側鎖を持つアミノ酸については、必要に応じて保護基が導入されたアミノ酸を使用した。

(1) 第1アミノ酸の導入

2-クロロトリチルクロライド-レジンの置換率に対して0.6等量のFmoc-アミノ酸をできるだけ少量の乾燥ジメチルホルムアミド(DMF)に溶解後、最終的に溶液量が10mlになるようにジクロロメタン(DCM)を添加した。2-クロロトリチルクロライド-レジン 1.0 gを添加後、ジイソプロピルエチルアミン(DIEA)をアミノ酸に対して0.5等量加え、5分間攪拌した。DIEA 1.0等量とDCM (1:1)を加え、更に20分間攪拌後、メタノールを0.8 ml加え、10分間攪拌した。レジンをガラスフィルター(N_o. 2)で吸引濾過後、DCM、DMF、イソプロパノール、メタノール、ジエチルエーテルそれぞれ10mlで3回洗浄し、デシケーター中で真空ポンプにより乾燥した。

(2) 第2アミノ酸以降のカップリング

第2アミノ酸以降のカップリングは、2.5 ml容のポリプロピレン製の反応容器で行い、また、攪拌は、N₂ガスのバブリングによって行った。反応容器に上記(1)で得たアミノ酸-レジンを入れ100 mgに対し、DMF 1.5mlを加え、3分間バブリング後濾過した。5%ピペリジンを含むDCM/DMF溶液 1.5mlを加え10分間バブリング後濾過した。30%のピペリジンを含むDMF溶液処理(1.5 ml、2分間、2回)を行い、DMF洗浄(1.5 ml、1分間、5回)後、Fmoc-アミノ酸、HOBt、PyBOPをそれぞれ600 μmol、NMM 1000 μmolを用い、DMF 1.5 ml中で、アミノ酸のカップリングを行った。30分間反応後、DMF洗浄(1.5ml、1分間、5回)、30%のピペリジンを含むDMF溶液処理(1.5 ml、2分間、2回)、DMF洗浄(1.5 ml、1分間、5回)を行い、同様にFmoc-アミノ酸、HOBt、PyBOP、NMMを加えカップリング反応を行った。同様の操作で、5種類のアミノ酸をカップリング後、30%のピペリジンを含むDMF溶液処理(1.5 ml、2分間、2回)、DMF洗浄(1.5 ml、1分間、5回)を行った。

(3) ペプチド-レジンのからのペプチドの切り出し
ペプチド-レジンの入った反応容器に、酢酸/トリフル
オロエタノール/DCM(1:1:8) 1.5 mlを加え室温で60分
間反応させ濾過した。反応容器に再度、同溶液を加え、
レジンを洗浄後濾過した。濾液と洗液を合わせ、遠心管
に入れ、無水ジエチルエーテルを加え、沈殿したペプチ
ドを遠心分離 (850 ×g、5分間) により回収、N₂ガス
でバージ乾燥させた。

(4) ペプチドの環状化

上記(1)～(3)により得たペプチドを DMFに溶解し、ペ
プチドに対して等モルのHOBt、PyBOP、NMMを加え、更
に、最終濃度 1 mM となるように DMFを加え、室温で 1
0 時間静置し、環状化反応を行った。反応終了後、

(3) 同様にエーテル沈殿によりペプチドを回収、少量
のエーテルで洗浄後、N₂ガスでバージ乾燥させた。

(5) 脱保護

環状ペプチド 15 mgに対して 1 ml のトリフルオロ酢酸
(TFA)/H₂O/チオアニソール/エタンジオール(EDT)/エチ
ルメルチルスルフィド(EMS)/フェノール (82:5:5:3:2:3)
を加え、室温で6時間静置し、脱保護反応を行った。反
応終了後、上記(3)と同様にエーテル沈殿によりペプチ
ドを回収、少量のエーテルで洗浄、さらに、少量の蒸留
水でペプチドを洗浄後、凍結乾燥を行った。

(6) 生成物の確認

以上の操作により得られた物質を FAB-MS、アミノ酸分
析により分析し環状ペンタペプチドの合成を確認した。
FAB-MSは、SX-102A(日本電子)によりマトリックスとし
てグリセリンを用いて測定した。アミノ酸分析は、合成
したペプチド 200 nmol を 6N HCl 1 mlにより110℃で2
0時間酸加水分解後、アミノ酸分析計 (835 型日立アミ
ノ酸分析計) で行った。

製造例 1 : A=D-Val; B=L-Leu; C=D-Leu; D=L-Phe;
E=D-Arg の環状ペンタペプチドの製造

上記の方法により Fmoc-D-Leu-レジジン 50 mgから環状ペ
ンタペプチド 16.93 mg を得た。得られた物質をFAB-M
S、アミノ酸分析により分析し目的物質の合成を確認し
た。FAB-MSの分析では、(M+H)⁺ が 629を示し、アミノ
酸分析の結果では、Leu:Val:Arg:Phe=1.8:1.0:1.0:1.1
のモル比で構成されていることが示され、目的物質の合
成が確認された。また、本物質のNMR スペクトルデータ
は以下のとおりである。

NMR: ¹H NMR (270 MHz, DMSO-d₆) δ 8.69 (1H, d, J=6.8 Hz), 8.44 (1H, d, J=8.2 Hz), 8.28 (1H, d, J=7.4 Hz), 7.97 (1H, d, J=8.9 Hz), 7.58 (1H, t, J=4.6 Hz), ~7.3 (2H, br), 7.18 (5H, m), ~7.0 (1H, br), 6.81 (1H, d, J=8.0 Hz), 4.42 (1H, m), 4.35 (1H, m), 4.20 (1H, m), 4.01 (1H, m), 3.83 (1H, m), 2.97 (2H, m), 2.82 (2H, m), 1.83 (1H, m), 1.5-1.6 (4H, m), 1.34 (4H, m), 1.19 (2H, m), 0.87 (3H, d, J=6.5 Hz), 0.84 (3H, d, J=6.2 Hz), 0.78 (12H, m)

NMR: ¹³C NMR (270 MHz, DMSO-d₆) δ 171.6, 171.4, 171.1, 170.8, 170.7, 156.7, 137.1, 129.1, 128.0, 126.2, 57.5, 54.8, 54.3, 50.8, 50.2, 40.0, 39.3, 39.0, 37.3, 30.8, 27.8, 25.1, 24.1, 24.0, 22.7, 22.6, 22.1, 21.5, 18.7, 18.5

製造例 2 : A=D-Val; B=L-Leu; C=D-Leu; D=L-Phe;
E=D-Lys の環状ペンタペプチドの製造

上記の方法により Fmoc-D-Leu-レジジン 50 mgから環状ペ
ンタペプチド 3.58 mgを得た。得られた物質をFAB-MS、
アミノ酸分析により分析し目的物質の合成を確認した。
FAB-MSの分析では、(M+H)⁺ が 601を示し、アミノ酸分
析の結果では、Leu:Val:Lys:Phe=2:1:1:1のモル比で構
成されていることが示された。目的物質の合成が確認さ
れた。また、本物質のNMR スペクトルデータは以下のと
おりである。

NMR: ¹H NMR (270 MHz, DMSO-d₆) δ 8.70 (2H, d, J=7.3 Hz), 8.17 (1H, d, J=7.3 Hz), 7.92 (1H, d, J=9.2 Hz), 7.60 (1H, t, J=5.5 Hz), ~7.2 (2H, br), ~6.9 (1H, br), 6.77 (1H, d, J=7.5 Hz), 4.40 (1H, m), 4.20 (1H, m), 4.03 (1H, m), 3.94 (2H, m), 3.10 (2H, m), 1.7-1.9 (4H, m), 1.4-1.6 (8H, m), 0.8-0.9 (24H, m)

生物活性

ヒトリンパ腫由来単球細胞である U-937細胞を使用し、
細胞表面におけるプラスミノゲンの活性化促進活性を
プラスミノゲンの活性化により生じたプラスミンに対
して特異性の高い合成基質 S-2251 (D-Val-Leu-Lys-p-
ニトロアニリドジハイドロクロライド) による比色定量
によって測定した。対数増殖期の U-937細胞をシャーレ
から遠心管に移し、415 ×g、3分間遠心分離後、培地
を除き細胞を Hank's 平衡塩類溶液 (HBSS) で2回洗浄
後、HBSSに懸濁した。1.5 ml容のマイクロ遠心管に最終
濃度で、細胞を 1.5×10⁷ 細胞/ml、プラズマを 50%、
tPA を 20 IU/ml となるように加え液量を HBSS で 50
μl に調整し、環状ペンタペプチドとともに 37℃で1
時間振盪した。反応終了後、1500×g、1分間遠心分離
し、HBSS 100 μl で2回洗浄後、100 mMの NaCl を含
む 50 mM Tris/HCl 緩衝液 pH 7.4 で 0.5 mM とした S-
2251 を 100 μl 加え、再び、37℃で1時間振盪した。
反応液を1500×g、1分間遠心分離後、上清 80 μl を
マイクロプレート (CORNING 社) に入れ、マイクロプレ
ートリーダー (BIO-RAD 社) で 405 nm における吸光度
を測定した。上記の方法により製造された本発明の環状
ペンタペプチドのFAB-MSデータ[(M+H)⁺]、アミノ酸分
析の結果、および生物活性 (Aが D-Valであり、Bが L-
Leuであり、Cが D-Leuであり、Dが L-Pheであり、E
が D-Argである環状ペンタペプチドの生物活性を100 と
した場合の相対値) を以下の表 1 に示す (表中、allは
アロイソロイシンを示す)。

【表 1】

A	B	C	D	E	FAB-MS M+H ⁺	アミノ酸分析値	活 性
D-Val	L-Leu	D-Leu	L-Phe	D-Arg	628	Val:Leu:Phe:Arg (1.0:1.8:1.1:1.0)	100
L-Val	L-Leu	D-Leu	L-Phe	D-Arg	628	Val:Leu:Phe:Arg (1.0:1.7:1.1:1.0)	86
D-Leu	L-Leu	D-Leu	L-Phe	D-Arg	642	Leu:Phe:Arg (3.0:1.1:1.0)	37
D-Phe	L-Leu	D-Leu	L-Phe	D-Arg	676	Leu:Phe:Arg (1.9:2.1:1.0)	50
D-Lys	L-Leu	D-Leu	L-Phe	D-Arg	657	Lys:Leu:Phe:Arg (1.1:2.0:1.1:1.0)	16
D-Arg	L-Leu	D-Leu	L-Phe	D-Arg	685	Leu:Phe:Arg (1.9:1.0:1.8)	10
D-Glu	L-Leu	D-Leu	L-Phe	D-Arg	658	Glu:Leu:Phe:Arg (1.0:2.1:1.0:1.0)	8
D-Gln	L-Leu	D-Leu	L-Phe	D-Arg	657	Gln:Leu:Phe:Arg (1.0:2.0:1.1:1.0)	16
D-Ala	L-Leu	D-Leu	L-Phe	D-Arg	600	Ala:Leu:Phe:Arg (1.1:2.0:1.0:1.0)	—
D-Ser	L-Leu	D-Leu	L-Phe	D-Arg	616	Ser:Leu:Phe:Arg (1.0:2.0:1.0:1.0)	—
D-Val	L-Val	D-Leu	L-Phe	D-Arg	614	Val:Leu:Phe:Arg (2.1:1.0:1.1:1.1)	24
D-Val	D-Leu	D-Leu	L-Phe	D-Arg	628	Val:Leu:Phe:Arg (1.2:2.0:1.1:1.1)	14
D-Val	L-Phe	D-Leu	L-Phe	D-Arg	662	Val:Leu:Phe:Arg (1.1:1.0:2.1:1.0)	32
D-Val	L-Lys	D-Leu	L-Phe	D-Arg	643	Val:Lys:Leu:Phe:Arg (1.1:1.1:1.0:1.1:1.0)	5
D-Val	L-Arg	D-Leu	L-Phe	D-Arg	671	Val:Leu:Phe:Arg (1.1:1.1:1.1:2.0)	2
D-Val	L-His	D-Leu	L-Phe	D-Arg	671	Val:His:Leu:Phe:Arg (1.1:1.2:1.0:1.1:1.0)	4
D-Val	L-Glu	D-Leu	L-Phe	D-Arg	644	Val:Glu:Leu:Phe:Arg (1.1:1.0:1.0:1.1:1.0)	—
D-Val	L-Gln	D-Leu	L-Phe	D-Arg	643	Val:Gln:Leu:Phe:Arg (1.0:1.0:1.0:1.0:1.1)	8
D-Val	L-Ala	D-Leu	L-Phe	D-Arg	586	Val:Ala:Leu:Phe:Arg (1.1:1.1:1.0:1.1:1.0)	—
D-Val	L-Ser	D-Leu	L-Phe	D-Arg	602	Val:Ser:Leu:Phe:Arg (1.0:1.0:1.0:1.0:1.0)	—
D-Val	L-Leu	D-Val	L-Phe	D-Arg	614	Val:Leu:Phe:Arg (2.0:1.1:1.0:1.0)	54
D-Val	L-Leu	L-Leu	L-Phe	D-Arg	628	Val:Leu:Phe:Arg (1.2:2.0:1.0:1.1)	43
D-Val	L-Leu	D-Ala	L-Phe	D-Arg	628	Val:Leu:Ala:Phe:Arg (1.2:1.0:1.0:1.1:1.1)	47

D-Val L-Leu D-Phe L-Phe D-Arg	662	Val:Leu:Phe:Arg (1.0:1.0:2.0:1.0)	28
D-Val L-Leu D-Lys L-Phe D-Arg	643	Val:Leu:Lys:Phe:Arg (1.1:1.1:1.0:1.1:1.1)	—
D-Val L-Leu D-Arg L-Phe D-Arg	671	Val:Leu:Phe:Arg (1.1:2.0:1.0:1.1)	—
D-Val L-Leu D-Glu L-Phe D-Arg	644	Val:Leu:Glu:Phe:Arg (1.0:1.0:1.0:1.0:1.0)	—
D-Val L-Leu D-Gln L-Phe D-Arg	643	Val:Leu:Gln:Phe:Arg (1.1:1.0:1.0:1.0:1.0)	—
D-Val L-Leu D-Ala L-Phe D-Arg	586	Val:Leu:Ala:Phe:Arg (1.0:1.0:1.0:1.0:1.0)	—
D-Val L-Leu D-Ser L-Phe D-Arg	602	Val:Leu:Ser:Phe:Arg (1.1:1.1:1.2:1.1:1.0)	—
D-Val L-Leu D-Leu L-Val D-Arg	580	Val:Leu:Arg (2.0:2.1:1.0)	278
D-Val L-Leu D-Leu L-Leu D-Arg	594	Val:Leu:Arg (1.0:3.1:1.0)	208
D-Val L-Leu D-Leu L-Phe D-Arg	628	Val:Leu:Phe:Arg (1.0:2.0:1.1:1.1)	48
D-Val L-Leu D-Leu L-Tyr D-Arg	644	Val:Leu:Tyr:Arg (1.2:2.2:1.0:1.3)	105
D-Val L-Leu D-Leu L-Lys D-Arg	609	Val:Leu:Lys:Arg (1.0:2.1:1.0:1.0)	35
D-Val L-Leu D-Leu L-Arg D-Arg	637	Val:Leu:Arg (1.0:2.0:2.0)	36
D-Val L-Leu D-Leu L-His D-Arg	618	Val:Leu:His:Arg (1.1:2.1:1.0:1.1)	37
D-Val L-Leu D-Leu L-Glu D-Arg	610	Val:Leu:Glu:Arg (1.1:2.1:1.0:1.0) (1.1:2.1:1.0:1.0)	4
D-Val L-Leu D-Leu L-Ala D-Arg	552	Val:Leu:Ala:Arg (1.0:2.1:1.1:1.1)	50
D-Val L-Leu D-Leu L-Ser D-Arg	568	Val:Leu:Ser:Arg (1.1:2.2:1.0:1.1)	27
D-Val L-Leu D-Leu L-Phe D-Val	571	Val:Leu:Phe (2.0:1.8:1.0)	—
D-Val L-Leu D-Leu L-Phe D-Leu	585	Val:Leu:Phe (1.0:2.8:1.2)	—
D-Val L-Leu D-Leu L-Phe D-Phe	619	Val:Leu:Phe (1.0:1.8:1.8)	—
D-Val L-Leu D-Leu L-Phe D-Lys	600	Val:Leu:Phe:Lys (1.2:2.1:1.1:1.0)	141
D-Val L-Leu D-Leu L-Phe L-Lys	600	Val:Leu:Phe:Lys (1.1:2.2:1.2:1.0)	60
D-Val L-Leu D-Leu L-Phe L-Arg	628	Val:Leu:Phe:Arg (1.1:1.8:1.2:1.0)	79
D-Val L-Leu D-Leu L-Phe D-His	609	Val:Leu:Phe:His (1.1:2.0:1.1:1.0)	—
D-Val L-Leu D-Leu L-Phe L-His	609	Val:Leu:Phe:His	—

			(1.0:2.0:1.1:1.0)	
D-Val	L-Leu	D-Leu	L-Phe	D-Glu
601			Val:Leu:Phe:Glu	—
			(1.1:2.0:1.0:1.0)	
D-Val	L-Leu	D-Leu	L-Phe	D-Gln
600			Val:Leu:Phe:Gln	—
			(1.0:2.0:1.0:1.0)	
D-Val	L-Leu	D-Leu	L-Phe	D-Asn
586			Val:Leu:Phe:Asn	—
			(1.1:2.1:1.2:1.0)	
D-Val	L-Leu	D-Leu	L-Phe	D-Ala
543			Val:Leu:Phe:Ala	—
			(1.0:1.9:1.0:1.1)	
D-Val	L-Leu	D-Leu	L-Phe	D-Ser
559			Val:Leu:Phe:Ser	—
			(1.1:2.0:1.1:1.0)	

—：生物活性未測定

【発明の効果】本発明により新規かつ有用な環状ペプチドが提供される。本発明の環状ペプチドは、プラスミノゲンの活性化促進作用を有しており、

例えば血栓溶解剤または抗動脈硬化剤等として有用である。